

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION CONCERNING  
SUBMISSION OR TRANSMITTAL  
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ABE, Masahiro  
1001, Dia Palace Tsudanuma  
14-1, Maebara-nishi 2-chome  
Funabashi-shi, Chiba 274-0825  
Japan

Date of mailing (day/month/year) 09 December 2003 (09.12.03)	<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>
Applicant's or agent's file reference PCT-AB03040	
International application No. PCT/JP03/13276	
International publication date (day/month/year) Not yet published	
International filing date (day/month/year) 16 October 2003 (16.10.03)	Priority date (day/month/year) 21 October 2002 (21.10.02)
Applicant <b>KAZUSA DNA RESEARCH INSTITUTE FOUNDATION et al</b>	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk(\*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
21 Octo 2002 (21.10.02)	2002-305318	JP	04 Dece 2003 (04.12.03)

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 338.70.10

Authorized officer

Althea NEVERS (Fax 338 7010)

Telephone No. (41-22) 338 8392



From the INTERNATIONAL BUREAU

**PCT**NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE  
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL  
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

ABE, Masahiro  
1001, Dia Palace Tsudanuma  
14-1, Maebara-nishi 2-chome  
Funabashi-shi, Chiba 274-0825  
JAPONDate of mailing (*day/month/year*)  
29 April 2004 (29.04.2004)Applicant's or agent's file reference  
PCT-AB03040**IMPORTANT NOTICE**International application No.  
PCT/JP2003/013276International filing date (*day/month/year*)  
16 October 2003 (16.10.2003)Priority date (*day/month/year*)  
21 October 2002 (21.10.2002)

Applicant

KAZUSA DNA RESEARCH INSTITUTE FOUNDATION et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has **communicated**, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

EP, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

None

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 29 April 2004 (29.04.2004) under No. WO 2004/035788

4. **TIME LIMITS for filing a demand for international preliminary examination and for entry into the national phase**

The applicable time limit for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **30 MONTHS** from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of **19 months** from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, **time limits other than the 30-month time limit** will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For **regular updates on the applicable time limits** (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a **demand for international preliminary examination**, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

It is the applicant's **sole responsibility** to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Masashi Honda

Facsimile No.+41 22 740 14 35

Facsimile No.+41 22 338 70 10



Part



NOV 2003

10/530880

PCT/JPC3/13276

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

16.10.03 DEC 2003

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

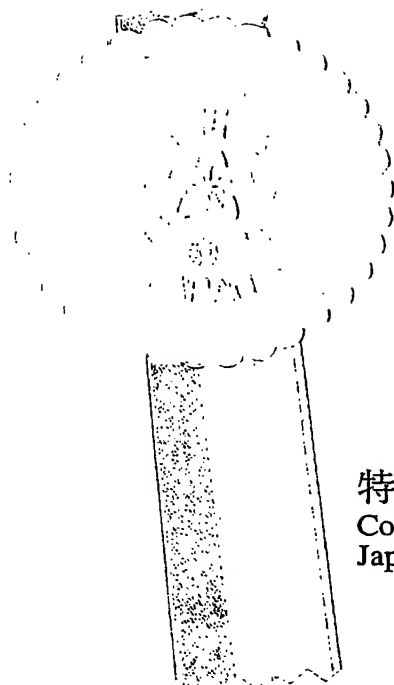
This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application: 2002年10月21日

出願番号  
Application Number: 特願2002-305318  
[ST. 10/C]: [JP2002-305318]

出願人  
Applicant(s): 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所  
株式会社プロテイン・エクスプレス

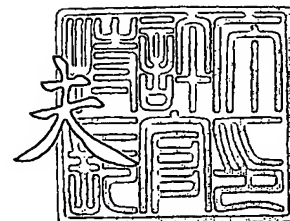
PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)



2003年11月20日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今井 康



【書類名】 特許願

【整理番号】 AB02030

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県木更津市かずさ鎌足二丁目6番地7 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

【氏名】 小原 収

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県木更津市かずさ鎌足二丁目6番地7 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

【氏名】 長瀬 隆弘

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県木更津市かずさ鎌足二丁目6番地7 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所内

【氏名】 菊野 玲子

【特許出願人】

【識別番号】 596175810

【氏名又は名称】 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所

【特許出願人】

【識別番号】 500546994

【氏名又は名称】 株式会社プロテイン・エクスプレス

【代理人】

【識別番号】 100100181

【弁理士】

【氏名又は名称】 阿部 正博

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 053419

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9904161

【包括委任状番号】 0204673

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 新規遺伝子及びそれにコードされる蛋白質

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 以下の (a) または (b) のポリペプチド:

(a) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列と同一または実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

(b) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列において、一部のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなり、(a) のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するポリペプチド、  
をコードする塩基配列を含む DNA。

【請求項 2】 請求項 1 に記載の DNA と相補的な塩基配列からなる DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、請求項 1 (a) のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するポリペプチドをコードする DNA。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 に記載の DNA を含む遺伝子構築物。

【請求項 4】 以下の (a) または (b) のポリペプチド:

(a) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列と同一または実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

(b) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列において、一部のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなり、(a) のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するポリペプチド。

【請求項 5】 請求項 3 に記載の遺伝子構築物にコードされる組換えポリペプチド。

【請求項 6】 請求項 4 または 5 に記載のポリペプチドに対する抗体。

【請求項 7】 請求項 1 または 2 に記載の DNA を配列させた、DNA チップ

。

【請求項 8】 請求項 4 または 5 に記載のポリペプチドを配列させたポリペプチドチップ。

【請求項 9】 請求項 6 に記載の抗体を配列させた抗体チップ。

【請求項 10】 請求本項 1 又は 2 記載の DNA に対するアンチセンスオリゴ

ヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、DNAおよび該DNAを含む遺伝子、並びに該DNAにコードされる組換えポリペプチドおよび該ポリペプチドを含む新規組換えタンパク質に関し、より詳細には、Quiescin Q6 ファミリーに属すると考えられる新規なタンパク質の遺伝子及びそれにコードされるタンパク質に関する。

【0002】

【従来技術】

ヒトゲノム計画における大規模シーケンシングによって、ヒトゲノムの塩基配列に関する膨大な情報が得られ、日々解析が進められている。

ヒトゲノム計画の最終目的は単にゲノム全塩基配列を決定することではなく、その構造情報、即ち、DNAの塩基配列情報からヒトのさまざまな生命現象を読み解くことにあろう。

【0003】

【非特許文献1】

Donald L. Coppock他 著、Genomics 54, “The Quiescin Q6 Gene (QSCN 6) is a Fusion of Two Ancient Gene Families: Thioredoxin and ERV1”, 1998, p.460-468

【非特許文献2】

Beatrice Benayoun他 著、The Journal of Biological Chemistry Vol.276, No.17, “Rat Seminal Vesicle FAD-dependent Sulfhydryl Oxidase”, 2001, p.13830-13837

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

ヒトゲノム配列中でタンパク質をコードしている領域はそのごく一部であり、現在は、ニューラルネットワークや隠れマルコフモデルと呼ばれる情報科学の手法を用いて、そのコード領域の予測が行われている。しかしながら、それらの予

測精度はまだ充分なものではない。

【0005】

今回、本発明者は新規な遺伝子を見出すべく、ヒト成人全脳、及びヒト胎児全脳由来の cDNA ライブラリーから、タンパク質をコードしている領域を含む新規な DNA を直接クローニングすることに成功し、それらの塩基配列を決定して本発明を完成させた。

【0006】

【課題を解決するための手段】

即ち、本発明は第一の態様において、以下の(a)または(b)：

(a) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列と同一または実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

(b) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列において、一部のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなり、(a)のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するポリペプチド、

をコードする塩基配列を含む DNA に係る。このような DNA の例として、限定するものではないが、配列番号 1 の塩基配列を含有する DNA が挙げられる。

また本発明は第二の態様において、本発明の第一の態様である DNA と相補的な塩基配列からなる DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、上記(a)のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性（機能）を有するポリペプチドをコードする DNA に係る。

以上の本発明の第一および第二の態様である DNA をまとめて、以下「本発明 DNA」ともいう。さらに本発明は、本発明 DNA に実質的に相補的な塩基配列を有するアンチセンス DNA にも係る。

【0007】

さらに本発明は第三の態様において、本発明 DNA を含む遺伝子構築物に係る。

本明細書において「遺伝子構築物」とは、人為的に操作されたあらゆる遺伝子を意味する。遺伝子構築物の例としては、限定するものではないが、本発明 DNA または本発明 DNA のアンチセンス DNA を含むベクター、および本発明 DNA



の発現ベクターが挙げられる。

【0008】

本発明は第四の態様において、以下の(a)または(b)：

(a) 配列番号1で示されるアミノ酸配列と同一または実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

(b) 配列番号1で示されるアミノ酸配列において、一部のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなり、(a)のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するポリペプチド、  
に係る。

また本発明は第五の態様において、本発明の第三の態様である遺伝子構築物にコードされる組換えポリペプチドにも係る。

以上のポリペプチドは、まとめて、以下「本発明ポリペプチド」ともいう。尚、本明細書では、ポリペプチドとは、「あらゆる分子量を有するアミノ酸の重合体」を意味する。本発明はまた、本発明ポリペプチドを含んでなる組換えタンパク質にも係る。前述の定義の通り、本明細書において用語「ポリペプチド」は分子量による制限を課していないため、用語「本発明ポリペプチド」には本発明ポリペプチドを含む組換えタンパク質もまた含まれる。

【0009】

本発明は第六の態様において、本発明ポリペプチドに対する抗体に係る。

本発明は第七の態様において、本発明DNAを配列させたDNAチップに係る。

本発明は第八の態様において、本発明ポリペプチドを配列させたポリペプチドチップに係る。

本発明は第九の態様において、本発明の第六の態様である抗体を配列させた抗体チップに係る。

本発明は第十の態様において、本発明DNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドに係る。

本発明DNAを有するクローンの名称、本発明ポリペプチドの長さ、予測される機能および推定の根拠を表1に示す。

## 【0010】

## 【発明の実施の形態】

本発明DNAは、市販されている(クロンテック社製)ヒト成人全脳及びヒト胎児全脳のmRNAを出発材料として、本発明者が調製したcDNAライブラリーから、cDNA断片として単離した後に、塩基配列を決定し同定したものである。

即ち、具体的には、小原他の方法(DNA Research 4:53-59(1997))に従って調製したヒト成人全脳及びヒト胎児全脳由来のcDNAライブラリーからクローンをランダムに単離する。

これらの末端塩基配列を解析後、クエリーとして既知遺伝子のデータベースにて相同性検索を行い、その結果、新規であることが判明したクローンについて、cDNAの5'および3'の末端配列をヒトのゲノム配列に対応させ、それらが挟む領域に未知の長鎖遺伝子が確認された場合には、そのcDNAの全長解析をおこなう。

また、短い断片や得られた配列に人工的な間違いが起こらないように十分な注意を払いながら、RACEなどのPCR法を使用することによっても、本発明DNAを含むヒト由来遺伝子の全領域を調製することも可能である。

## 【0011】

更に、本発明は、本発明DNAまたは本発明DNAを含む遺伝子構築物を含有する組換えベクター、該組換えベクターを保持する形質転換体、該形質転換体を培養し、本発明ポリペプチドもしくは該ポリペプチドを含む組換えタンパク質を生成、蓄積せしめ、これを採取することを特徴とする、本発明ポリペプチドもしくは該ポリペプチドを含む組換えタンパク質、またはその塩の製造方法、および、こうして得られる本発明ポリペプチドもしくは該ポリペプチドを含む組換えタンパク質またはその塩を提供する。

## 【0012】

また本発明は、本発明DNAまたは遺伝子構築物を含有してなる医薬、本発明ポリペプチドもしくはその部分ポリペプチドまたは該ポリペプチドを含む組換えタンパク質をコードする塩基配列を含むポリヌクレオチド(DNA)、本発明DNAに対するアンチセンスヌクレオチド、該ポリヌクレオチドまたはアンチセンス

ヌクレオチドを含有してなる医薬、本発明ポリペプチドもしくはその部分ポリペプチド、および、該ポリペプチドまたはそれらを含む組換えタンパク質を含有してなる医薬に係る。

#### 【0013】

また本発明は、本発明DNA、本発明ポリペプチド、および本発明ポリペプチドに対する抗体を配列して作製される、DNAチップ、ペプチドチップ、および抗体チップにも係る。

#### 【0014】

更に、本発明は、本発明ポリペプチド、その部分ポリペプチドもしくは該ポリペプチドを含む組換えタンパク質またはそれらの塩、またはそれらに対する抗体を用いることを特徴とする、それら物質と特異的に相互作用する物質のスクリーニング方法、スクリーニング用キット、並びに、該スクリーニング方法によって同定される物質(化合物)自体などにも係る。

#### 【0015】

本発明DNAとしては、前述した本発明ポリペプチドをコードする塩基配列からなるものであればいかなるものであってもよい。また、ヒトの脳、または、それ以外の組織、例えば、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、精巣などの細胞・組織に由来するcDNAライブラリーなどから同定・単離されたcDNA、または、合成DNAのいずれでもよい。

ライブラリー作成に使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりトータルRNA画分またはmRNA画分を調製したものを用いて、直接逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応(以下、「RT-PCR法」と略称する)によって増幅することもできる。

#### 【0016】

本発明DNAに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、例えば、本発明ポリペプチドまたはその部分ポリペプチドをコードするDNAと実質的に相補的な塩基配列を有し、本発明DNAの発現を抑制し得る作用を有する任意のアンチセンスDNAが含まれる。実質的に相補的な塩基配列とは、例えば、本発明

DNAに相補的な塩基配列の全塩基配列または部分塩基配列と好ましくは約90%以上、より好ましくは約95%以上、最も好ましくは100%の相同性を有する塩基配列などが挙げられる。また、これらアンチセンスDNAと同様の作用を有する核酸配列(RNAまたはDNAの修飾体)も本発明でいうアンチセンスオリゴヌクレオチドに含まれる。これらのアンチセンスオリゴヌクレオチドは、公知のDNA合成装置などを用いて製造することができる。

#### 【0017】

配列番号1で示されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列とは、配列番号1で示される全アミノ酸配列との相同性の程度が、全体の平均で約70%以上、好ましくは約80%以上、更に好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上であるアミノ酸配列を意味する。

従って、本発明の配列番号1で示されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチドとしては、例えば、配列番号1で示されるアミノ酸配列に対して上記の相同性を有し、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性(機能)を有するポリペプチドを挙げることができる。ここで、実質的に同質とは、それらの活性(機能)が性質的に同質であることを示す。

また、本発明ポリペプチドには、例えば、配列番号1で示されるアミノ酸配列中の一部(好ましくは、1~20個程度、より好ましくは1~10個程度、さらに好ましくは数個)のアミノ酸が欠失、置換または付加したアミノ酸配列、或いはそれらを組み合わせたアミノ酸配列からなり、配列番号1で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性(機能)を有するポリペプチドも含まれる。

#### 【0018】

上記の配列番号1で示されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチド、またはその一部のアミノ酸が欠失、置換または付加したアミノ酸配列からなるポリペプチドは、例えば、部位特異的変異導入法、遺伝子相同組換え法、プライマー伸長法、およびPCR法などの当業者に周知の方法を適宜組み合わせて、容易に作成することが可能である。

尚、その際に、実質的に同質の生物学的活性を有するためには、当該ポリペプチドを構成するアミノ酸のうち、同族アミノ酸(極性・非極性アミノ酸、疎水性・親水性アミノ酸、陽性・陰性荷電アミノ酸、芳香族アミノ酸など)同士の置換が可能性として考えられる。また、実質的に同質の生物学的活性の維持のためには、本発明のポリペプチドに含まれる機能ドメイン内のアミノ酸は保持されることが望ましい。

#### 【0019】

本発明DNAは、本発明ポリペプチドをコードする塩基配列を含むDNA、及び、本発明の第一の態様であるDNAと相補的な塩基配列からなるDNAとストリンジントな条件下でハイブリダイズし、配列番号1で示されるアミノ酸配列と同一又は実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチドの機能と同質の生物学的活性(機能)を有するポリペプチドをコードするDNAを包含する。

このようなストリンジントな条件下でハイブリダイズできるDNAの例としては、例えば、該DNAの全塩基配列との相同性の程度が、全体の平均で約80%以上、好ましくは約90%以上、より好ましくは約95%以上である塩基配列を含有するDNAなどを挙げることができる。

#### 【0020】

ハイブリダイゼーションは、「分子生物学の最新プロトコール」(Current protocols in molecular biology(Frederick M. Ausubelら編、1987))に記載の方法など、当業界で公知の方法あるいはそれに準じる方法に従って行うことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行うことができる。

ここで、「ストリンジントな条件」とは、例えば、65℃の1mM EDTA ナトリウム、0.5M リン酸水素ナトリウム(pH7.2)、7%SDS 水溶液中でハイブリダイズさせ、65℃の1mM EDTA ナトリウム、40mM リン酸水素ナトリウム(pH7.2)、1%SDS 水溶液中でメンブレンを洗浄する条件でのサザンブロットハイブリダイゼーションで本発明DNAプローブにハイブリダイズする程度の条件である。上記以外の条件によっても、同じストリンジエンシーとすることができる。

#### 【0021】

本発明DNAのクローニングの手段としては、本発明ポリペプチドの部分などの適当な塩基配列を有する合成DNAプライマーを用いてPCR法によって増幅するか、または適当なベクターに組み込んだDNAを本発明ポリペプチドの一部あるいは全領域をコードするDNA断片もしくは合成DNAを用いて標識したもののハイブリダイゼーションによって選別することができる。

ハイブリダイゼーションの方法は、例えば、上記の「分子生物学の最新プロトコル」(Frederick M. Ausubelら編、1987)に記載の方法などに従って行うことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行うことができる。

クローン化されたポリペプチドをコードするDNAは目的によりそのまま、または所望により制限酵素で消化したり、リンカーを付加したりして使用することができる。該DNAはその5'末端側に翻訳開始コドンとしてのATGを有し、また3'末端側には翻訳終止コドンとしてのTAA、TGAまたはTAGを有していてもよい。これらの翻訳開始コドンや翻訳終止コドンは、適当な合成DNAアダプターを用いて付加することもできる。

#### 【0022】

本発明のポリペプチドの発現ベクターは、当該技術分野で公知の方法に従って作成することができる。例えば、(1)本発明DNAまたは本発明DNAを含む遺伝子を含有するDNA断片を切り出し、(2)該DNA断片を適当な発現ベクター中のプロモーターの下流に連結することにより製造することができる。

ベクターとしては、大腸菌由来のプラスミド(例、pBR322、pBR325、pUC18、pUC118)、枯草菌由来のプラスミド(例、pUB110、pTP5、pC194)、酵母由来プラスミド(例、pSH19、pSH15)、λファージなどのバクテリオファージ、レトロウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルスなどの動物ウイルスなどを利用することができる。

本発明で用いられるプロモーターとしては、遺伝子の発現に用いる宿主に対応した適切なプロモーターであればいかなるものでもよい。例えば、宿主が大腸菌である場合は、trpプロモーター、lacプロモーター、recAプロモーター、λPLプロモーター、lppプロモーターなどが、宿主が枯草菌である場合

は、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、penPプロモーターなど、宿主が酵母である場合は、PHO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーターなどが好ましい。動物細胞を宿主として用いる場合は、SR $\alpha$ プロモーター、SV40プロモーター、LTRプロモーター、CMVプロモーター、HSV-TKプロモーターなどが挙げられる。

発現ベクターには、以上の他に、所望により当該技術分野で公知の、エンハンサー、スプライシングシグナル、ポリA付加シグナル、選択マーカー、SV40複製起点などを付加することができる。また、必要に応じて、本発明のDNAにコードされたタンパク質を他のタンパク質(例えば、グルタチオンSトランスフェラーゼおよびプロテインA)との融合タンパク質として発現させることも可能である。このような融合タンパク質は、適当なプロテアーゼを使用して切断し、それぞれのタンパク質に分離することができる。

### 【0023】

宿主細胞としては、例えば、エシェリキア属菌、バチルス属菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが用いられる。

エシェリキア属菌の具体例としては、エシェリキア・コリ(*Escherichia coli*) K12・DH1 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 60:160(1968))、JM103 (Nucleic Acids Research, 9:309(1981))、JA221 (Journal of Molecular Biology, 120:517(1978))、およびHB101 (Journal of Molecular Biology, 41:459(1969))などが用いられる。

バチルス属菌としては、例えば、バチルス・サチルス(*Bacillus subtilis*) MI114 (Gene, 24:255(1983))、207-21 [Journal of Biochemistry, 95:87(1984)]などが用いられる。

酵母としては、例えば、サッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*) AH22、AH22R-、NA87-11A、DKD-5D、20B-12などのサッカロマイセス、シゾサッカロマイセス・ポンベ(*Schizosaccharomyces pombe*) NCYC1913、NCYC2036、ピヒア・パストリス(*Pichia pastoris*)などが用いられる。

動物細胞としては、例えば、サル細胞COS-7、Vero、チャイニーズハム

スター細胞 CHO (以下、CHO 細胞と略記)、dhfr 遺伝子欠損 CHO 細胞、マウス L 細胞、マウス At T-20、マウスミエローマ細胞、ラット GH3、ヒト FL 細胞などが用いられる。

#### 【0024】

これら宿主細胞の形質転換は、当該技術分野で公知の方法に従って行うことができる。例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、69:2110(1972)、Gene、17:107(1982)、Molecular & General Genetics、168:111(1979)、「酵素学における方法」(Methods in Enzymology)、第194巻、182-187(1991)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、75:1929(1978)、細胞工学別冊 8 新 細胞工学実験プロトコル、263-267(1995) (秀潤社発行); および Virology、52:456(1973) を参照できる。

#### 【0025】

このようにして得られた、本発明 DNA または本発明 DNA を含む遺伝子を含む発現ベクターで形質転換された形質転換体は、当該技術分野で公知の方法に従って培養することができる。

例えば、宿主がエシェリキア属菌の場合、培養は通常約 15 ~ 43℃ で約 3 ~ 24 時間行い、必要により、通気や攪拌を加えることもできる。宿主がバチルス属菌の場合、培養は通常、約 30 ~ 40℃ で約 6 ~ 24 時間行い、必要により通気や攪拌を加えることもできる。

宿主が酵母である形質転換体を培養する際、培養は通常、pH 約 5 ~ 8 に調整された培地を用いて約 20℃ ~ 35℃ で約 24 ~ 72 時間行い、必要に応じて通気や攪拌を加えることもできる。

宿主が動物細胞である形質転換体を培養する際、pH は約 6 ~ 8 に調整された培地を用いて、通常約 30℃ ~ 40℃ で約 15 ~ 60 時間行い、必要に応じて通気や攪拌を加えることもできる。

#### 【0026】

上記培養物から本発明ポリペプチドまたはタンパク質を分離精製するには、例えば、培養後、公知の方法で菌体あるいは細胞を集め、これを適当な緩衝液に懸濁し、超音波、リゾチームおよび/または凍結融解などによって菌体あるいは細胞を破壊したのち、遠心分離やろ過によりタンパク質の粗製抽出液を得る。緩衝



液の中に尿素や塩酸グアニジンなどのタンパク質変性剤や、トリトンX-100(商標)などの界面活性剤が含まれていてもよい。培養液中にタンパク質が分泌される場合には、培養終了後、公知の方法で菌体あるいは細胞と上清とを分離し、上清を集める。このようにして得られた培養上清、あるいは抽出液中に含まれるタンパク質の精製は、公知の分離・精製法を適切に組み合わせて行うことができる。

#### 【0027】

こうして得られた本発明ポリペプチドは、公知の方法あるいはそれに準じる方法によって塩に変換することができ、逆に塩で得られた場合には公知の方法あるいはそれに準じる方法により、遊離体または他の塩に変換することができる。更に、組換え体が産生するタンパク質を、精製前または精製後に、トリプシンおよびキモトリプシンのような適当なタンパク質修飾酵素を作用させることにより、任意に修飾を加えたり、ポリペプチドを部分的に除去することもできる。

#### 【0028】

本発明ポリペプチドまたはその塩の存在は、様々な結合アッセイおよび特異抗体を用いたエンザイムイムノアッセイなどにより測定することができる。

本発明ポリペプチドは、C末端が通常カルボキシル基( $-COOH$ )またはカルボキシレート( $-COO^-$ )であるが、C末端がアミド( $-CONH_2$ )またはエステル( $-COOR$ )であってもよい。ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどのC1-6アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどのC3-8シクロアルキル基、例えば、フェニル、 $\alpha$ -ナフチルなどのC6-12アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C1-2アルキル基もしくは $\alpha$ -ナフチルメチルなどの $\alpha$ -ナフチル-C1-2アルキル基などのC7-14アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチルエステルなどが用いられる。

本発明ポリペプチドがC末端以外にカルボキシル基(またはカルボキシレート)を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明のポリペプチドに含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記

したC末端のエステルなどが用いられる。さらに、本発明のポリペプチドには、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基(例えば、ホルミル基、アセチル基などのC1-6アシル基など)で保護されているもの、生体内で切断されて生成するN末端のグルタミン酸残基がピログルタミン化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上にある、例えばOH、COOH、NH<sub>2</sub>、SHなどが適当な保護基(例えば、ホルミル基、アセチル基などのC1-6アシル基など)で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖タンパク質などの複合タンパク質なども含まれる。

### 【0029】

本発明のポリペプチドの部分ポリペプチドとしては、前記した本発明ポリペプチドの部分ペプチドであって、実質的に同質の活性を有するものであればいずれのものでもよい。例えば、本発明ポリペプチドの構成アミノ酸配列のうち少なくとも10個以上、好ましくは50個以上、さらに好ましくは70個以上、より好ましくは100個以上、最も好ましくは200個以上のアミノ酸配列を有し、例えば、本発明のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するペプチドなどが用いられる。本発明の部分ポリペプチドとしては、例えば、各機能ドメインを含むものが好ましい。また、本発明の部分ペプチドはC末端が通常カルボキシル基(−COOH)またはカルボキシレート(−COO<sup>−</sup>)であるが、前記した本発明のポリペプチドのごとく、C末端がアミド(−CONH<sub>2</sub>)またはエステル(−COOR)であってもよい。さらに、本発明の部分ペプチドには、前記した本発明のポリペプチドと同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。本発明の部分ペプチドは、例えば、試薬、実験の際の標準物質、または免疫原もしくはその一部として使用することができる。

本発明ポリペプチドまたはその部分ペプチドの塩としては、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸(例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸)との塩、あるいは有機酸(例えば、酢酸、

ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リ  
ンゴ酸、シュウ酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸)との塩  
などが用いられる。

### 【0030】

本発明ポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそれらの塩またはそれらのア  
ミド体は、当該技術分野で公知の化学合成方法を用いて調製することもできる。

例えば、通常市販されているタンパク質合成用樹脂を用い、 $\alpha$ -アミノ基と側  
鎖官能基を適当に保護したアミノ酸を、目的とするポリペプチドの配列通りに、  
当業界において知られた各種縮合方法に従い、樹脂上で縮合させる。反応の最後  
に樹脂からポリペプチドを切り出すと同時に各種保護基を除去し、さらに高希釈  
溶液中で分子内ジスルフィド結合形成反応を実施し、目的のポリペプチド、その  
部分ペプチドまたはそれらのアミド体を取得する。上記した保護アミノ酸の縮合  
に関しては、例えば、DCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、およびN-エチ  
ル-N'-(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドのようなカルボジイミド類に  
代表されるポリペプチド合成に使用できる各種活性化試薬を用いることができる。  
これらによる活性化にはラセミ化抑制添加剤(例えば、HOBt, HOOBt)とともに  
保護アミノ酸を直接樹脂に添加するか、または対照とする酸無水物またはHOBtエ  
ステルあるいはHOOBtエステルとしてあらかじめ保護アミノ酸の活性化を行った  
後に樹脂に添加することができる。

保護アミノ酸の活性化や樹脂との縮合に用いられる溶媒としては、酸アミド類  
、ハロゲン化炭化水素類、アルコール類、スルホキシド類、およびエーテル類な  
ど、当業界においてポリペプチド縮合反応に使用しうることが知られている溶媒  
から適宜選択されうる。反応温度はポリペプチド結合形成反応に使用され得るこ  
とが知られている範囲から適宜選択される。活性化されたアミノ酸誘導体は通常  
1.5~4倍過剰で用いられる。ニンヒドリン反応を用いたテストの結果、縮合  
が不十分な場合には保護基の脱離を行うことなく縮合反応を繰り返すことにより  
十分な縮合を行うことができる。反応を繰り返しても十分な縮合が得られないと  
ときには、無水酢酸またはアセチルイミダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチ  
ル化して、後の反応に影響を及ぼさないようにすることができる。

原料の各アミノ基、カルボキシル基、およびセリン水酸基などの保護基としても、当該技術分野において、通常使用される基を使用することができる。

原料の反応に関与すべきでない官能基の保護ならびに保護基、およびその保護基の脱離、反応に関与する官能基の活性化などは公知の基または公知の手段から適宜選択しうる。

#### 【0031】

本発明の部分ペプチドまたはそれらの塩は、当該技術分野において知られたペプチドの合成法に従って、あるいは本発明のポリペプチドを適当なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。ペプチドの合成法としては、例えば、固相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。公知の縮合方法や保護基の脱離としては、例えば、泉屋信夫他、ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株)、(1975年)、矢島治明および榊原俊平、生化学実験講座1、タンパク質の化学IV、205、(1977年)、矢島治明監修、続医薬品の開発、第14巻、ペプチド合成、広川書店に記載された方法が挙げられる。

反応後の精製も公知の方法、例えば、溶媒抽出・蒸留・カラムクロマトグラフィー・液体クロマトグラフィー・再結晶などを組み合わせて本発明の部分ペプチドを精製単離することができる。上記方法で得られる部分ペプチドが遊離体である場合は、公知の方法によって適当な塩に変換することができるし、逆に塩で得られた場合は、公知の方法によって遊離体に変換することができる。

#### 【0032】

本発明ポリペプチド、その部分ペプチドまたはそれらの塩に対する抗体は、それらを認識し得るものであれば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体の何れであってもよい。本発明ポリペプチド、その部分ペプチドまたはそれらの塩に対する抗体は、本発明ポリペプチドまたはその部分ペプチドを抗原として用い、公知の抗体または抗血清の製造法に従って製造することができる。

本発明の抗体は、体液や組織などの被検体中に存在する本発明ポリペプチドなどを検出するために使用することができる。また、これらを精製するために使用する抗体カラムの作製、精製時の各分画中の本発明ポリペプチドの検出、被検細胞内における本発明ポリペプチドの挙動の分析などのために使用することができ

る。

### 【0033】

以下に本発明DNA、本発明ポリペプチド、本発明の抗体などの使用についてさらに詳述する。

本発明DNA、本発明DNAのアンチセンスDNA、またはこれらのDNAを含む遺伝子構築物をプローブとして使用することにより、本発明ポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAまたはmRNAの異常(遺伝子異常)を検出することができる。

例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。本発明のDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法(Genomics, 5:874-879(1989)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:2766-2770(1989))などにより実施することができる。

更に、本発明DNAまたは遺伝子に異常がある場合、欠損している場合あるいは発現量が減少している場合、生体内において正常な機能を発揮できない患者に対しては、公知手段に従ってレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターをベヒクルとして使用する遺伝子治療によって、本発明DNAまたは遺伝子構築物を該患者体内に導入し発現させると効果的であると考えられる。また、発現量が増加しているために正常な機能が発揮できない場合には、アンチセンスの導入が効果的であろう。

本発明DNA、本発明のアンチセンスDNA、または遺伝子構築物を、それらのDNAや構築物を単独、または摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与することも可能である。

または上記の疾患の患者に対して本発明のポリペプチドなどを該患者に注入することなどによって、該患者において本発明のポリペプチドなどの機能を発揮させることができるものと考えられる。

### 【0034】

更に、本発明の抗体は、公知の方法による被検液中の本発明ポリペプチドなどの定量、特に、モノクローナル抗体を使用したサンドイッチ免疫測定法による定量、および組織染色などによる検出などに使用することができる。それによって、例えば、本発明ポリペプチドなどが関与する疾病の診断を行うことができる。

これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子の  $F(a b')_2$ 、 $F a b'$ 、あるいは  $F a b$  画分を用いてもよい。本発明の抗体を用いる本発明のポリペプチドなどの定量法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量(例えば、タンパク質量)に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられる。標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、当該技術分野で公知の、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などを用いることができる。

#### 【0035】

これらの測定・検出方法に関する一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参照することができる。例えば、入江 寛編、続ラジオイムノアッセイ(講談社、昭和54年発行)、石川栄治ら編、酵素免疫測定法(第3版;医学書院、昭和62年発行)、「酵素学における方法」第70巻「免疫化学的技術(パートA)」(Immunochemical Techniques(Part A))、同書第73巻「免疫化学的技術(パートB)」(Immunochemical Techniques(Part B))、同書第74巻「免疫化学的技術(パートC)」(Immunochemical Techniques(Part C))、同書第84巻「免疫化学的技術(パートD: 選択された免疫アッセイ)」(Immunochemical Techniques(Part D: Selected Immunoassays))、同書第92巻「免疫化学的技術(パートE: モノクローナル抗体および一般的な免疫アッセイ法)」(Immunochemical Techniques(Part E: Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書第121巻「免疫化学的技術(パートI: ハイブリドーマ技術およびモノクローナル抗体)」(Immunochemical Techniques(Part I: Hybridoma Technology and Monoclonal Antibodies)) (以上、アカデミックプレス社発行)などを参照することができる。

## 【0036】

また本発明DNAを配列させて作製したDNAチップは、本発明DNAの変異・多型性の検出、発現量のモニタリングにおいて有用である。DNAチップの一種であるDNAアレイなどに関しては、「DNAマイクロアレイと最新PCR法」(細胞工学別冊 ゲノムサイエンスシリーズ1、村松正明、那波宏之監修、2000年3月16日第1版第1刷発行)などを参照されたい。

さらに本発明ポリペプチドを配列させて作製したポリペプチドチップは、本発明ポリペプチドの発現、相互作用、翻訳後修飾などの機能解析や、タンパク質の同定、精製のための強力なツールとなり得る。

本発明ポリペプチドに対する抗体を配列させて作製した抗体チップは、疾患、障害、その他の生理的現象と本発明ポリペプチドとの相関を解析するために非常に有用である。

これらのチップの作製方法および材料は当業者には公知である。

## 【0037】

更に、本発明ポリペプチドなどは、これらと特異的に相互作用する化合物をスクリーニングするための試薬として有用である。すなわち、本発明は、本発明ポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそれらの塩、又はそれらに対する抗体(以下、「本発明ポリペプチドなど」ともいう)を用いることを特徴とする、該物質またはそれらの塩と特異的に相互作用する化合物のスクリーニング方法、およびそのためのスクリーニング用キットを提供する。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて同定される化合物またはその塩は、本発明ポリペプチドなどと相互作用し、その生物学的活性を調節、阻害、促進、または拮抗などする化合物である。該化合物またはその塩は、本発明のポリペプチドなどの活性に直接作用するものであってもよいし、本発明ポリペプチドなどの発現に作用することによって間接的に本発明ポリペプチドなどの活性に作用するものであってもよい。該化合物の塩としては、例えば、薬学的に許容しうる塩などが用いられる。例えば、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などがあげられる。本発明ポリペプチドなどの生物学的活性を阻害する化合物も上記

各種疾病に対する治療・予防剤などの医薬として使用できる可能性がある。

### 【0038】

本明細書において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUBの命名に関する委員会による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

### 【0039】

#### 【実施例】

以下に、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はそれ限定されるものではない。なお、実施例における各種遺伝子操作は、上記の「分子生物学の最新プロトコル」(Frederick M. Ausubelら編、(1987))に記載されている方法に従った。

#### (1) ヒト成人全脳及びヒト胎児全脳由来cDNAライブラリーの構築

Not I 部位を有するオリゴヌクレオチド(GACTAGTTCTAGATCGCGAGCGGCCGCC(T)<sub>15</sub>)(インビトロジェン社製)をプライマーとして、ヒト成人全脳およびヒト胎児全脳由来mRNA(クロンテック社製)を鋳型にSuperScriptII逆転写酵素キット(インビトロジェン社製)で2本鎖cDNAを合成した。Sal I 部位を有するアダプター(インビトロジェン社製)をcDNAとライゲーションした。その後、Not I 消化し、1%濃度の低融解アガロース電気泳動により、3 kb 以上のDNA断片を精製した。

精製cDNA断片を、Sal I-Not I 制限酵素処理したpBluescript IISK+プラスミドとライゲーションした。大腸菌 ElectroMax DH10B株(インビトロジェン社製)にエレクトロポレーション法によりこの組換えプラスミドを導入した。

### 【0040】

#### (2) スクリーニング

ランダムに単離したクローンの末端塩基配列を決定し、得られた配列をクエリーとして相同検索プログラムBLASTN 2.2.1 (Altschul、Stephen F.、Thomas L. Madden、Alejandro A. Schaffer、Jinghui Zhang、Zheng Zhang、Webb Miller、



およびDavid J. Lipman (1997)、「ギャップBLASTおよびPSI-BLAST: タンパク質データベース検索プログラムの新規作成」(Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs), Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402)を用いて、nr(GenBank+EMBL+DDBJ+PDB配列(但しEST、STS、GSSまたはフェーズ0、1または2のHTGS配列は含まず))データベースに対して相同検索を行った。その結果、相同遺伝子が存在しなかったもの、即ち、新規遺伝子であるものについて、その5'および3'の末端配列を、相同検索プログラムBLASTN2.2.1を用いて、ヒトのゲノム配列([ftp://ncbi.nlm.nih.gov/genomes/H\\_sapiens/](ftp://ncbi.nlm.nih.gov/genomes/H_sapiens/))に対応させた。

#### 【0041】

次に、それらが挟むゲノム領域から、Genscanプログラム(Burge, C. and Karlin, S. 1997, Prediction of complete gene structures in human genomic DNA, J Mol. Biol., 268, 78-94、ゲノムから遺伝子を予測するコンピューターソフト)を用いて、コードされる遺伝子を抜き出した。これをクエリーとして、相同検索プログラムBLASTN2.2.1を用いて、mergedb(かずさDNA研究所で決定したヒトのcDNAの配列とGenBankのhomo sapiensデータベースからESTとゲノムを除いたものを重複なく混ぜ合わせた、かずさDNA研究所で独自に作成したDNA配列データベース)に対応させ、新規の長鎖(Genscan予想cdsが1200 bp以上)遺伝子が確認された場合には、cDNAの全長解析をおこなった。

配列決定には、PEアプライドバイオシステム社製のDNAシーケンサー(ABI PRISM377)と同社製反応キットを使用した。大部分の配列はショットガンクローンをダイターミネーター法を用いて決定した。一部の塩基配列については、決定した塩基配列を元にしてオリゴヌクレオチドを合成し、プライマーウォーキング法で決定した。

このようにして新規DNAまたは遺伝子のスクリーニングを行った。その結果、配列表の配列番号1に示された新規DNAまたは遺伝子を有するクローン「fj03204」が検出された。

#### 【0042】

(3)本発明DNAの相同性検索

次に、こうして得られた全塩基配列に基づき、クローンのアミノ酸配列を既知配列ライブラリーnr に対して解析プログラムBLASTP 2.2.1 (「ギャップBLASTおよびPSI-BLAST: タンパク質データベース検索プログラムの新規作成」、前掲)を用いて検索したところ表2に示した各相同遺伝子と相同性を示すことが明らかになった。尚、表1には、これら相同遺伝子に関する情報、即ち、その名称、データベースID、生物種およびその学名、タンパク質長、および記載文献を示す。

【0043】

【表1】

遺伝子名	データベースID	タンパク質長	生物種	論文
Quiescin Q6	gi 13325075	747	Human	Genomics(1998),54(3);460-8
Quiescin Q6	gi 16758172	570	Rat	J.B.C.(2001),276(17);13830-7
Quiescin Q6	gi 12963609	568	Mouse	Genome Res.(2000),10(10);1617-30

【0044】

更に、各クローンに含まれる本発明DNAまたは遺伝子と表1に示した各相同遺伝子との相同性に関する各種データを表2にまとめた。これら表中の各項目の意味は以下の通りである。

「Score」この値が高いほど信頼度が高い

「E-value」この値が0に近いほど信頼度が高い

「相同性」相同領域のアミノ酸残基の一致の割合

「相同範囲率」相同遺伝子中の相同領域の割合

【0045】

【表2】

相 同 領 域					相 同 値			
ク ロ ー ン		相 同 遺 伝 子			Score	E-value	相同性	相同範囲率
起点	終点	生物種	起点	終点				
34	629	Human	12	613	464	e-135	41%(252/611)	81%
23	583	Rat	6	559	474	e-132	44%(246/565)	97%
23	588	Mouse	6	565	483	e-129	45%(257/572)	99%

【0046】

(4)各種ドメインの検索

次に、クローンに含まれるDNAがコードするアミノ酸配列中から、Pfam 7.6 に含まれる検索ツールPfam HMM ver 2.1 Search (HMMPFAM) (Sonnhammer ELL、Eddy SR、Birney E、Bateman A、およびDurbin R (1998)「Pfam: マルチプル配列アライメントおよびタンパク質ドメインのHMM特性」(Pfam: multiple sequence alignments and HMM-profiles of protein domains), Nucleic Acids Res. 26:320-322)を用いて機能ドメインを検索した。

更に、膜タンパク質予測プログラムであるSOSUI system (ver. 1.0 / 10, Mar ., 1996) (Takatsugu Hirokawa, Seah Boon-ChiengおよびShigeki Mitaku、[SOSUI: 膜タンパク質に関する分類と2次構造予測システム」(SOSUI: Classification and Secondary Structure Prediction System for Membrane Proteins), Bioinformatics (以前のCABIOS) 1998 May;14(4):378-379)を用いて膜貫通ドメインを検索した。

これらの検出された機能ドメインおよび膜貫通ドメインをそれぞれのクローンについて表3に示した。

これら表中の各項目の意味は以下の通りである。

「機能ドメイン」 PfamまたはSOSUIにより検出されたドメイン

「起点 (From)」 機能ドメインの起点となるアミノ酸位置

「終点 (To)」 機能ドメインの終点となるアミノ酸位置

「Score(Pfamのみ)」 この値が高いほど信頼度が高い

「Exp(Pfamのみ)」 この値が0に近いほど信頼度が高い

【0047】

【表3】

fj03204					human quiescin				
機能ドメイン	From	To	Score	Exp	機能ドメイン	From	To	Score	Exp
sosui	29	51			Thioredoxin	39	155	52.5	9e-12
Thioredoxin	60	177	28.7	6.1e-06					
sosui	654	676							

rat quiescin					mouse quiescin				
機能ドメイン	From	To	Score	Exp	機能ドメイン	From	To	Score	Exp
sosui	12	34			sosui	11	33		
Thioredoxin	42	162	49.0	1e-10	Thioredoxin	42	162	45.8	9.9e-10
sosui	63	85			sosui	63	85		

【0048】

## (5) 発現部位

RT-PCR ELISAを用いて、組織と脳の部位での発現を調べた結果を表4に示した (Nagase T, Ishikawa K, Suyama M, Kikuno R, Miyajima N, Tanaka A, Kotani H, Nomura N, Ohara O. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XI. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. DNA Res. 1998 Oct 30;5(5):277-86.)。

発現量(単位(fg) per ng of poly(A)+ RNA)が0.1未満を +、0.1以上100未満を ++、100以上を +++ で示した。

尚、各組織及び脳の部位の完全標記を表5に示した。

【0049】

【表 4】

clone name	成人																		胎児		
	組織										脳の領域								組織		
	He	Br	Lu	Li	Sm	Ki	Pa	Sp	Te	Ov	Am	Co	Ce	Ca	Hi	Ni	Nu	Th	Sp	Li	Br
	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
f103204	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

【0050】

【表 5】

	略記	標記	日本語
組織	Br	Brain	脳
	He	Heart	心臓
	Ki	Kidney	腎臓
	Li	Liver	肝臓
	Lu	Lung	肺臓
	Ov	Ovary	卵巣
	Pa	Pancreas	膵臓
	Sm	S.muscle	骨格筋
	Sp	Spleen	脾臓
	Te	Testis	精巣
脳の領域	Am	B.amygdala	脳の扁桃体
	Ca	B.caudate nucleus	脳の尾状核
	Ce	B.cerebellum	脳の小脳
	Co	B.corpus callosum	脳の脳梁
	Hi	B.hippocampus	脳の海馬
	Ni	B.substantia nigra	脳の黒質
	Nu	B.subthalamic nucleus	脳の視床下部の核
	Th	B.thalamus	脳の視床
	Sp	Spinal cord	脊髄

【0051】

## (6) 染色体位置

クローンのDNA塩基配列に対応する既知配列ライブラリーGenbank release122  
及び 123 中のヒトゲノム配列に対して解析プログラムBLASTN 2..2.1 (「ギャッ

「BLASTおよびPSI-BLAST:タンパク質データベース検索プログラムの新規作成」  
、前掲)を用いて検索した。又、クローンのDNA配列を、相同検索プログラムBLAST  
TN 2.2.1を用いてヒトゲノムをコードするクローンのライブラリー(ftp://ncbi.  
nlm.nih.gov/genomes/H\_sapiens/)に対応させた。

その結果、本発明の遺伝子は2番目の染色体(2q21)に位置することが確  
認された。

#### 【0052】

##### (7) インビトロでの転写翻訳

インビトロでの転写翻訳系(プロメガ社,TNT T7 Quick Coupled Transcription/T  
ranslation System cat.no.L1107)を用いて、cDNAクローンfj03204からの遺伝子  
産物を発現させた。

<sup>35</sup>S標識メチオニンを取り込ませた産物を12.5%のSDS-PAGEで泳動した。ゲルを乾  
燥させ、BAS2000(Fujifilm)のシステムでオートラジオグラフィーをおこない、  
クローンfj03204の遺伝子産物を検出した。

その結果、77kDaのサイズマーカーに対応する位置に、クローンfj03204の転写翻  
訳産物と思われるバンドを確認した。

fj03204がコードするタンパク質は、最初のメチオニンから数えると698アミノ酸  
残基からなり、分子量は77,350kDaと予想され、実験結果はこれによく一致する  
ものであった。

#### 【0053】

##### (8) 本発明遺伝子の機能

以上の、相同性、相同性遺伝子に関する情報、各種ドメイン、発現部位、及び  
染色体位置等に関するデータから以下のことが明らかとなった。

#### 【0054】

即ち、相同性検索及び機能ドメインの検索から、本発明のDNAまたは遺伝子  
はQuiescin Q6 Gene (QSCN 6)のファミリーと40%程度の相同性を有し、その  
N末端領域にチオレドキシン(Thioredoxin)ドメインを有していることが明ら  
かとなった。更に、非特許文献1及び非特許文献2に開示されたQuiescin Q6 Ge  
ne (QSCN 6)アミノ酸配列とのアライメントからも明らかなように、本発明のD

NAまたは遺伝子のC末端領域（配列番号1におけるアミノ酸405～539番目）には酵母のERV1を有していることが判明した。これらのことから、本発明のDNAまたは遺伝子は非特許文献1及び非特許文献2等に記載されたQuiescin Q6 Gene (QSCN 6)のファミリーに属すると推測することが出来る。

#### 【0055】

非特許文献1及び非特許文献2に記載されているように、ERV1遺伝子は酵母の酸化的リン酸化及び無性増殖に必須の遺伝子であり（Lisowsky, T. (1992), Mol. Gen. Genet., 232:58-64）、酵母ミトコンドリアゲノムの維持及び細胞分裂周期に重要な役割を担っていると考えられている（Lisowsky, T. (1994), Curr. Genet., 26:15-20）。

又、QSCN6は活発に増殖している繊維芽細胞における発現は低く、静止期にある繊維芽細胞では高発現されている。QSCN6のmRNAは繊維芽細胞が増殖期から静止期に移行し始めるときに、強く発現が誘導され、一方で、形質転換された繊維芽細胞においては抑制されていることが知られている（Coppock D. L. et al., (1993) Cell Growth Differ., 4:483-493）。

更に、このグループに属する幾つかの遺伝子は細胞外マトリックス（ECM）の成分である。ECMは細胞において構造的な役割を果たしているだけでなく、例えば、腫瘍抑制及び増殖調節のような機能的な役割も担っている。

#### 【0056】

以上のことから、QSCN6は細胞接着における役割を担っている可能性がある。更に、正常細胞が可逆的静止期に入る過程において機能している可能性があり、この遺伝子の活性が阻害されることが癌化において或る役割を担っていることも考えられる。又、QSCN6は細胞増殖の制御及び酸化還元状態に関わる役割を有するものと考えられる。

従って、当業者であれば、本発明のDNAまたは遺伝子が加齢に伴う疾患又は癌に深く関わる機能を有するものと推測することができる。

#### 【0057】

又、配列番号1に示されたクローンfj03204の塩基配列から明らかなように、翻訳開始コドン周辺の塩基配列（AACATGG）が、Kozakの共通配列（ACCATGG）



）に良く一致している。更に、非特許文献2に記載されているように、QSCN6は酵母ミトコンドリアのマトリックスに存在する蛋白質であるが、機能ドメインの検索から、クローンfj03204のN末端にも分泌に必要なシグナル配列（Sosui プログラム検出領域）が確認された。

以上の事実から、クローンfj03204は完全長の遺伝子をコードしているものと考えられる。

#### 【0058】

##### 【発明の効果】

細胞或いは組織の成長は、増殖期にある細胞の分画、静止期にある細胞の分画、及び細胞死の割合によって決定される動的プロセスである。細胞の増殖期から静止期への移行の調整は、成長の調整全体において重大なステップであり、適切な静止期への移行の阻害が癌や他の増殖性疾患の特徴である。

従って、本発明により加齢に伴う疾患又は癌の診断及び治療に大きな進歩が期待される。

#### 【0059】

更に、本発明のDNAもしくは遺伝子またはそれらの一部の塩基配列に基づき作成した合成DNAプライマーを使用し、ヒトの血液または組織から抽出した染色体DNAを用いてPCRを行い、その産物の塩基配列を決定することにより、本発明のDNAまたは遺伝子中にある個体によって異なる一塩基の変異、即ちSNPを見出すことができる。これにより、個体の体質などが予測され、各個体に適した医薬の開発などが可能となる。

また、クロスハイブリダイゼーションにより、マウスなどのモデル生物における本発明のDNAまたは遺伝子に対するオルソログ（ホモログ、カウンターパート）遺伝子を単離し、例えば、これら遺伝子をノックアウトすることによってヒトの疾患モデル動物を作成し、ヒトの病因となる遺伝子を探索・同定することもできる。

#### 【0060】

本発明で得られた新規なDNAまたは遺伝子を所謂DNAチップなどに集積させ、このチップに、例えば、癌患者などの患者と対照としての正常人由来の血液

または組織などから作製したプローブをハイブリダイゼーションさせることによって、これらの疾患の診断、治療などに役立てることができる。

また本発明ポリペプチドに対する抗体を網羅的に作製して配列させた抗体チップは、患者と正常人のタンパク質発現量の差異を検出するなどのプロテオーム解析から、病気の診断、治療などに役立てることができる。

更に、本発明のDNA又は遺伝子構築物はワクチンの活性成分として利用することができる。

【0061】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> KAZUSA DNA Research Institute Foundation, ProteinExpress Co., Ltd.

<120> Novel Gene and Protein Encoded by the Gene

<130> AB02030

<160> 1

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 4533

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (23)..(2119)

<400> 1

gcgcgccggc ggcacttcca ac atg gcg gcg gcc ggg gcg gcg gtg gcg cgc 52

Met Ala Ala Ala Gly Ala Ala Val Ala Arg

1 5 10

agc ccg gga atc gga gcg gga cct gcg ctg aga gcc cgg cgc tcg ccc 100

Ser Pro Gly Ile Gly Ala Gly Pro Ala Leu Arg Ala Arg Arg Ser Pro

15

20

25

ccg ccg cgg gcc gca cgg ctg ccg cgg ctg cta gtg ctg cta gcg gcg 148  
Pro Pro Arg Ala Ala Arg Leu Pro Arg Leu Leu Val Leu Leu Ala Ala  
30 35 40

gcg gcg gtg ggg ccg ggc gcg ggc ggt gcg gcg cgg ctg tac cgc gcg 196  
Ala Ala Val Gly Pro Gly Ala Gly Gly Ala Ala Arg Leu Tyr Arg Ala  
45 50 55

ggc gag gac gcc gtg tgg gtg ctg gac agc ggc agc gtg cgc ggg gcc 244  
Gly Glu Asp Ala Val Trp Val Leu Asp Ser Gly Ser Val Arg Gly Ala  
60 65 70

acc gcc aac agc tcg gcc gcg tgg ctc gtg cag ttc tac tcg tcg tgg 292  
Thr Ala Asn Ser Ser Ala Ala Trp Leu Val Gln Phe Tyr Ser Ser Trp  
75 80 85 90

tgt ggc cac tgc atc ggc tac gcg ccc act tgg cgg gcc ctg gct ggg 340  
Cys Gly His Cys Ile Gly Tyr Ala Pro Thr Trp Arg Ala Leu Ala Gly  
95 100 105

gat gtg cga gac tgg gcc agt gcc att cgc gtc gca gct ctg gac tgc 388  
Asp Val Arg Asp Trp Ala Ser Ala Ile Arg Val Ala Ala Leu Asp Cys  
110 115 120

atg gaa gag aag aac cag gcc gtg tgc cat gac tac gac atc cac ttc 436  
Met Glu Glu Lys Asn Gln Ala Val Cys His Asp Tyr Asp Ile His Phe  
125 130 135

tac ccc acc ttc cgg tat ttt aaa gca ttt aca aag gag ttt aca act 484  
Tyr Pro Thr Phe Arg Tyr Phe Lys Ala Phe Thr Lys Glu Phe Thr Thr  
140 145 150

gga gaa aat ttt aaa gga cct gac cga gag ctg cga aca gtc aga cag 532  
Gly Glu Asn Phe Lys Gly Pro Asp Arg Glu Leu Arg Thr Val Arg Gln  
155 160 165 170

acg atg att gac ttc ctg cag aac cac acg gaa gga agc cgg ccc cct 580  
Thr Met Ile Asp Phe Leu Gln Asn His Thr Glu Gly Ser Arg Pro Pro

175 180 185  
gcc tgc ccg cgc cta gac ccc att cag ccc agt gat gtt ctt tcc ctt 628  
Ala Cys Pro Arg Leu Asp Pro Ile Gln Pro Ser Asp Val Leu Ser Leu  
190 195 200  
ctt gac aac cgt ggc agc cat tac gtg gct att gtc ttt gaa agc aac 676  
Leu Asp Asn Arg Gly Ser His Tyr Val Ala Ile Val Phe Glu Ser Asn  
205 210 215  
agc tcc tac ctt gga cgg gag gtg atc tta gac ctg atc ccg tat gaa 724  
Ser Ser Tyr Leu Gly Arg Glu Val Ile Leu Asp Leu Ile Pro Tyr Glu  
220 225 230  
agc atc gtg gtg acc cga gca ctg gac ggg gac aaa gca ttt ctg gag 772  
Ser Ile Val Val Thr Arg Ala Leu Asp Gly Asp Lys Ala Phe Leu Glu  
235 240 245 250  
aaa ctt ggt gtt tct tca gtc cct tcg tgt tac ctg atc tac cca aat 820  
Lys Leu Gly Val Ser Ser Val Pro Ser Cys Tyr Leu Ile Tyr Pro Asn  
255 260 265  
ggg tcg cat gga ttg att aac gtc gtg aag cct ctg cgg gcc ttc ttt 868  
Gly Ser His Gly Leu Ile Asn Val Val Lys Pro Leu Arg Ala Phe Phe  
270 275 280  
tcg tct tat ttg aag tca ttg ccg gat gtg agg aaa aaa tcg ctt ccc 916  
Ser Ser Tyr Leu Lys Ser Leu Pro Asp Val Arg Lys Lys Ser Leu Pro  
285 290 295  
ttg cct gaa aag cca cac aaa gaa gaa aat tca gaa atc gtg gtt tgg 964  
Leu Pro Glu Lys Pro His Lys Glu Glu Asn Ser Glu Ile Val Val Trp  
300 305 310  
aga gaa ttt gac aag tcg aag ctg tac acg gtg gac ctg gag tca ggg 1012  
Arg Glu Phe Asp Lys Ser Lys Leu Tyr Thr Val Asp Leu Glu Ser Gly  
315 320 325 330  
cta cac tac ctc ctg cgg gtg gag ctg gca gcc cac aag tcc ctg gcc 1060

Leu His Tyr Leu Leu Arg Val Glu Leu Ala Ala His Lys Ser Leu Ala	
335 340 345	
gga gca gag ctg aag acg ctc aag gac ttt gtg act gtc ttg gcc aag	1108
Gly Ala Glu Leu Lys Thr Leu Lys Asp Phe Val Thr Val Leu Ala Lys	
350 355 360	
ctg ttc cct gga cgg ccg cca gtc aag aag ctg ttg gag atg ctg cag	1156
Leu Phe Pro Gly Arg Pro Pro Val Lys Lys Leu Leu Glu Met Leu Gln	
365 370 375	
gag tgg ctg gcc agc ctt ccc ctg gac agg atc ccc tac aac gcc gtg	1204
Glu Trp Leu Ala Ser Leu Pro Leu Asp Arg Ile Pro Tyr Asn Ala Val	
380 385 390	
ctt gac ctg gtc aac aac aag atg cgg att tct gga ata ttc ctt act	1252
Leu Asp Leu Val Asn Asn Lys Met Arg Ile Ser Gly Ile Phe Leu Thr	
395 400 405 410	
aat cac ata aag tgg gtt gga tgt caa gga agc cga tct gag ttg agg	1300
Asn His Ile Lys Trp Val Gly Cys Gln Gly Ser Arg Ser Glu Leu Arg	
415 420 425	
ggt tac ccg tgt tct ctc tgg aaa ctg ttc cac act ttg act gtt gaa	1348
Gly Tyr Pro Cys Ser Leu Trp Lys Leu Phe His Thr Leu Thr Val Glu	
430 435 440	
gcc tcg acc cac cca gat gca ctg gtt ggc aca ggc ttt gaa gac gac	1396
Ala Ser Thr His Pro Asp Ala Leu Val Gly Thr Gly Phe Glu Asp Asp	
445 450 455	
ccc cag gct gtg ctg cag aca atg agg agg tac gtt cac acc ttc ttt	1444
Pro Gln Ala Val Leu Gln Thr Met Arg Arg Tyr Val His Thr Phe Phe	
460 465 470	
ggg tgt aag gaa tgt ggt gag cac ttt gag gaa atg gct aaa gaa tcc	1492
Gly Cys Lys Glu Cys Gly Glu His Phe Glu Glu Met Ala Lys Glu Ser	
475 480 485 490	



atg gac tcg gtg aaa acc cca gac caa gcc atc ctc tgg ctg tgg aag 1540  
Met Asp Ser Val Lys Thr Pro Asp Gln Ala Ile Leu Trp Leu Trp Lys  
495 500 505

aag cat aat atg gtg aac ggc cgc ctg gca ggc cat ctg agt gag gat 1588  
Lys His Asn Met Val Asn Gly Arg Leu Ala Gly His Leu Ser Glu Asp  
510 515 520

ccc cgg ttt cca aag ctt cag tgg ccc act ccg gac ctc tgc cca gcc 1636  
Pro Arg Phe Pro Lys Leu Gln Trp Pro Thr Pro Asp Leu Cys Pro Ala  
525 530 535

tgc cat gag gaa att aag ggc ctg gcc agc tgg gat gaa ggc cac gtg 1684  
Cys His Glu Glu Ile Lys Gly Leu Ala Ser Trp Asp Glu Gly His Val  
540 545 550

ctc aca ttc ttg aag cag cac tat ggc cgc gac aac ctc tta gac acg 1732  
Leu Thr Phe Leu Lys Gln His Tyr Gly Arg Asp Asn Leu Leu Asp Thr  
555 560 565 570

tat tcc gca gac cag ggg gat tcc agt gaa gga gga acc ctg gcc agg 1780  
Tyr Ser Ala Asp Gln Gly Asp Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Ala Arg  
575 580 585

ggt gag gaa gag gag aaa aga ctc act ccc cca gag gtg tcc cat gga 1828  
Gly Glu Glu Glu Glu Lys Arg Leu Thr Pro Pro Glu Val Ser His Gly  
590 595 600

gac cga gac acc cag agc gtc cgt cca cct ggt gca ctg ggc ccc agg 1876  
Asp Arg Asp Thr Gln Ser Val Arg Pro Pro Gly Ala Leu Gly Pro Arg  
605 610 615

cct gcc ctt cca gag agc ttg cat cac agc ttg gac ggg aaa ctc cag 1924  
Pro Ala Leu Pro Glu Ser Leu His His Ser Leu Asp Gly Lys Leu Gln  
620 625 630

agt ctg gat ggg ccc ggg gcc cac aag gag gtg ggc ggg gcc gca ccc 1972  
Ser Leu Asp Gly Pro Gly Ala His Lys Glu Val Gly Gly Ala Ala Pro

635	640	645	650	
ttc ctc ggg gtt gac ttc tcc agc ctg gac atg agt ctc tgt gtc gtg				2020
Phe Leu Gly Val Asp Phe Ser Ser Leu Asp Met Ser Leu Cys Val Val				
655	660	665		
ctg tac gtg gct tca tcc ctg ttc ctc atg gtg atg tac ttc ttc ttc				2068
Leu Tyr Val Ala Ser Ser Leu Phe Leu Met Val Met Tyr Phe Phe Phe				
670	675	680		
cgg gtg agg tcc agg cgg tgg aag gtc aag cac cac cac ccg gcc gtg				2116
Arg Val Arg Ser Arg Arg Trp Lys Val Lys His His His Pro Ala Val				
685	690	695		
tga gtgccccgggt gctgccagcc acggcggaag ctcccttgga ggcagccctg				2169
ccccgtgcca cctgcagctt taatatattat gatcagggat tttataaaca tgcgggcctg				2229
gtttcacatc ggatggcacc ttttggcttc aaagtcctgg ttttaciaac gctcttctaa				2289
caagggaaga acacggggta attttgtggg gatatttgca ttcttggcgt actcaagtct				2349
gttcatgctc cttttgcagg tcttacagca aaaagacttc tgtattttta ctcttctaga				2409
tgtgaaaaga ggggtgcagag tccaggccag atagtcttcc ccacacactt tcatctcggt				2469
tcctccactc cgccccatcc tgcagggcct tgtttttgta tttggagAAC ctgcgccatc				2529
ccccccgcgg ctcttggtc ccccccccc cacttggtcc ctccctgcac cctccactcc				2589
cctcgctccc cctccccccg ctccccccac gccccctgct ccaggctgcc aagtgttttc				2649
ctttagccgg gcggggacag acagagccgg aagcgcagtc ggcctctgca gccctccaa				2709
gcaagtgtc cagggactat cctgtgtttg tagctgttc cctagggcag gttcctgagg				2769
gctctccttg ttctccggg tgttcgacac cagacgtggg gatttcaaca ggggaggagc				2829
caagggaattc tgtggctgtg ctgcgtttca gaaaataacc ccagaggcc ttgggctgtg				2889
gacctggggg ttggaaggat gggggctcat ttaaccctca gaggcagcgc ctttgtctgt				2949
ctatctggtg acaagagaga gacaagtaaa tgggggccgt tgggacggcg ggtgcctgga				3009
gggcagctct gggctcagcg ggcagtgtt agagcacagg cccctctgtt gggggatggg				3069
gaggagagca gtctgccctt gggagcgtag gccccaggga gacttctaaa gccccctg				3129
tcgtctgctc ttcaccagc accacagagg cacctgtgc acacacaagc atctcactcg				3189
gcccacggag ggggccaggc ttcttttgcc tgaagctgtt ttgggaaggg tctccacaca				3249

ggcactgata tcccaagctt tggatcatgat gtcttttacc atttgataat tttaaacatt 3309  
gtttttaaac ccaaaacatt tagtgggtccg ttgcctctga agatgtaaac aaacaaatac 3369  
actatttctg ggaacattta tattgagatt ctttgtggct attgggtgtgt ctcacaggca 3429  
aaatttgatt tggctaaaat aggctcagat gtatttgtgt gcccggtgtgt gtgtgtgtgt 3489  
gtgtgtgtgt gtgtgtgtat gagagagaga gagactttga cggttgtaga tattttttcc 3549  
gctttgccta ctttatgttg tataatcatg tgtttactaa caagttgatg acatggatgt 3609  
attcataaga ccatgtaata ttgatgtgat tgttgtcgt tgagaaaaaa aggcaacagc 3669  
tgattctttc aacaactgtc acagaatggc tgggctgaga acgctgcca gggccctgca 3729  
gctggcggga gaggtgtctg gtgggagcgg tgtctgggtg gtcagcctgc tgcttcgtgt 3789  
ctcactcgag agttgcttct ggtttcacac tttttaacc ctctgtgctt tagcagccgt 3849  
gaccttgcct tcattgcttc atccagtga gccctgggtt attgaagaca ccaaagtgtt 3909  
tctcttcag tttgaaaacc aggcagggtt acacgtgggt ttcagtgtat ttgcctttga 3969  
acccttcaa ctaaacttta gccttttggc tgggtgtgaa tgtctttagc tggggtgacc 4029  
tggagtgacc tgggacggtg ttgtgggtta ccgtctccag cttcagcctt tccagaaacc 4089  
cttgtggagg gcagtgttg ctgcagggtt catcatattg cagtttgagg tcaccactat 4149  
ttggggaaca agcttgcgtc ctgctgaggg gcaggatttt cagcagagcg tcggtggggc 4209  
tgggccgtcg tggaggtggc cccaggagtc atatggccat actcagacac acctgtgtg 4269  
gcctgctcag agctggatgc cacctttagg caatgtttag agtctatttt cttaaagttt 4329  
aagtatttta agaggattg agactaatga atataatagt tcagtaattt aaatgcttat 4389  
ttattttcag tggaaggatt tttattaaaa agaagctaatt tgacatggaa atgtcagtga 4449  
aatttcttac ctgcaaggaa agtgaacatt ttgtatttaa gtaaacata atgtgcacat 4509  
tttaataaag aaatctgaca ttg 4533



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 ヒト成人全脳及びヒト胎児全脳由来の cDNA ライブラリーからタンパク質をコードしている領域を含む新規な DNA を直接クローニングし、それらの塩基配列を決定し、更にそれらの機能を同定すること。

【解決手段】 以下の (a) または (b) のポリペプチドをコードする塩基配列を含む DNA :

(a) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列と同一または実質的に同一のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

(b) 配列番号 1 で示されるアミノ酸配列において、一部のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなり、(a) のポリペプチドの機能と実質的に同質の生物学的活性を有するポリペプチド、上記 DNA にコードされる組換えポリペプチド、および該ポリペプチドを含むタンパク質。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-305318
受付番号	50201576934
書類名	特許願
担当官	第六担当上席 0095
作成日	平成14年10月22日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年10月21日
-------	-------------

次頁無

特願 2002-305318

出願人履歴情報

識別番号

[596175810]

1. 変更年月日

2002年 6月13日

[変更理由]

住所変更

住 所

千葉県木更津市かずさ鎌足2-6-7

氏 名

財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所

特願 2 0 0 2 - 3 0 5 3 1 8

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 5 0 0 5 4 6 9 9 4 ]

1. 変更年月日  
[変更理由]  
住 所  
氏 名

2 0 0 0 年 1 1 月 2 9 日  
新規登録  
千葉県銚子市中央町 2 番地の 1 1  
株式会社プロテイン・エクスプレス